

ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ СТАНОВЛЕНИЕ ИЗОФЕРМЕНТНЫХ СПЕКТРОВ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В РАЗНЫХ ОРГАНАХ У ПЕСЦОВ

Унжаков А.Р.

*Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ Карельский научный центр РАН,
Петрозаводск, Российская Федерация.*

Относительно недавно введенные в зоокультуру, песцы сохранили стереотип воспроизводства, присущий для их диких предков, в частности, сжатый по времени период постнатального развития. В отличие от большинства видов продуктивных животных, относящихся к зрелорождающим или матуронатным, с точки зрения биологии развития песцы представляет интерес как имматуронатные пушные звери. Цель данной работы – изучить распределение изоферментов лактатдегидрогеназы во внутренних органах (сердце, почки, селезенка, лёгкие, скелетная мышца, печень) у щенков фермерских голубых песцов *Alopex lagopus* L. в возрасте от 15 до 210 сут. после рождения. Разделение изоферментов проводили методом горизонтального энзимэлектрофореза на пластинах агарового геля. Показано, что в сердце через 15 сут. после рождения у щенков песцов наблюдался высокий уровень аэробных изоферментов ЛДГ, суммарное содержание которых составляет около 80%. Статистически значимые изменения в изоэнзимном спектре ЛДГ почек выявлены у 25-сут. щенков. При этом коэффициент отношения $ЛДГ_5/ЛДГ_1$ снизился в 2 раза по сравнению с предыдущим возрастом, что может быть связано с началом употребления дефинитивного корма и перестройкой органов мочеобразования. В период после отсадки от матерей у двухмесячных щенков в изоферментном спектре ЛДГ селезенки и легких (в тканях с преобладанием гибридной фракции, ЛДГ-3), наблюдались существенные перестройки. В печени и в исследованной мышце *m. biceps femoris* (органах с преимущественно анаэробной системой энергообразования) в изоэнзимном профиле ЛДГ с 15-сут. возраста преобладали анаэробные субъединицы фермента. Выявлено, что тканеспецифичность изоферментного спектра ЛДГ проявляется уже в течение первого месяца жизни, а окончательное его становление осуществляется на протяжении 6 месяцев постнатального развития.

Ключевые слова: голубые песцы, постнатальный онтогенез, изоферменты лактатдегидрогеназы, тканевая специфичность

Проблемы биологии продуктивных животных, 2018, 4: 75-86

Введение

Большинство продуктивных животных относятся к зрелорождающим (матуронатным). Это, прежде всего, широко используемые в сельском хозяйстве такие объекты разведения, как КРС, свиньи, куры, утки, гуси и т.д. Зрелорождающиеся животные характеризуются способностью к относительно самостоятельному существованию с первых минут после рождения при условии наличия источника корма (Баймишев и др., 2013). С точки зрения биологии развития представляет интерес имматуронатные животные. К ним относятся щенки песцов, а также норки, собаки; котята, крольчата и др. В отличие матуронатных видов они рождаются слепыми, с закрытыми слуховыми отверстиями. Локомоторные движения у них проявляются только в виде ползания (Баймишев и др., 2013). Неспособность выполнять локомоторные акты имматуронатными животными обусловлена особенностями их пренатального остеогенеза. Почти во всех костных органах, в том числе и в трубчатых костях конечностей, при рождении выявляются только диафизарные (основные) центры окостенения.

Песец (*Alopex lagopus L.*) – выходец из высоких широт, типичный представитель тундровой зоны Арктики, приспособлен к жизни в суровых условиях Крайнего Севера. В неволе разводят в основном голубого песца – мутантную форму диких белых полярных лисиц. В результате относительно непродолжительного этапа промышленной domestikации существенных изменений в физиологии размножения песцов не произошло. Они сохраняют стереотип воспроизводства, присущий для их диких предков. Так, для разводимых в зоокультуре песцов характерна строгая сезонность репродукции, сжатый по времени период эмбрионального и постэмбрионального развития. Срок беременности у песцов всего 51-52 дней. Для сравнения, у других животных, разводимых в хозяйствах на мех, беременность продолжительнее – от 60-61 день у енотовидной собаки до 128-133 дня у нутрии. Сжатый срок эмбрионального, а затем постэмбрионального развития у этих млекопитающих является закреплённым в процессе эволюции приспособительным признаком. В условиях короткого весенне-летнего периода это приспособление позволяет песцам пройти все этапы индивидуального онтогенеза – от оплодотворения, затем родов до зрелости.

Изоферменты (изоэнзимы), открытые почти шестьдесят лет назад, вначале считались интересным, но редким феноменом (Райдер, Тейлор, 1983). С тех пор накопилась достаточно обширная информация о гетерогенности энзимов. Считается, что более половины всех ферментов имеет изоформы; это имеет значение во многих областях биологии. Так, расширились наши представления о регуляции метаболизма как у микроорганизмов и растений, так и у животных; изоферменты используют в энзимодиагностике (Волошин, 2018); они также используются как индикаторы при изучении дифференцировки и развития тканей организма. В регуляции состояния метаболизма у млекопитающих важная роль принадлежит изоферментам лактатдегидрогеназы (ЛДГ, ЕС 1.1.1.27), которые связаны с рядом процессов углеводного, жирового и энергетического обмена (Тютюнник и др., 2005; Sergina et al., 2015; Сергина и др., 2016; Унжаков, Тютюнник, 2016; Антонова и др., 2018).

ЛДГ – тетрамер; два локуса генов кодируют синтез двух олигомеров — М- и Н-субъединиц. М-субъединица синтезируется главным образом в тканях с анаэробным метаболизмом, в то время как Н-субъединица присутствует в тканях с преобладанием аэробных процессов. ЛДГ имеет 5 изоферментов, обозначаемых в соответствии с их подвижностью к аноду в электрическом поле: ЛДГ-1 (НННН), ЛДГ-2 (НННМ), ЛДГ-3, (ННММ), ЛДГ-4 (НМММ) и ЛДГ-5 (ММММ). ЛДГ участвует в окислении лактата в пируват в тканях с аэробным типом метаболизма (миокард, мозг, почки, эритроциты, тромбоциты). ЛДГ-5 осуществляет превращение пирувата в лактат в тканях с высоким уровнем гликолиза (скелетные мышцы, печень). Не все изоферменты ЛДГ гомогенны: при электрофоретическом разделении изоферментов в полиакриламидном геле обнаружено расщепление ЛДГ-3 на две полосы, которое позволяет предположить наличие в тканях синтез двух форм ЛДГ₃ с различным пространственным (цис- и транс-) расположением Н-субъединиц и М-субъединиц в тетрамере.

Представляет существенный интерес изучение динамики становления изоферментных спектров ЛДГ в разных органах животных в ходе онтогенеза (Masters, Holmes, 1972; Корочкин и др., 1977), поскольку, реагируя на изменения в процессе развития, изоферменты информируют о связи тканеспецифичности спектров с биохимической функцией органов, о роли в синхронном созревании ряда морфо-функциональных систем (Корочкин, 1976а; Райдер, Тейлор, 1983; Murell et al., 1993; Макар и др., 1996). Изоэнзимы ЛДГ, выполняя в клетках регуляторные функции и отражая направленность путей получения энергии (анаэробный и аэробный), обеспечивают специфический обмен, характерный для каждого вида животных (Lin et al., 2011). Изомеры ЛДГ, в составе которых преобладают анаэробные М-субъединицы, характерны для гликолитических скелетных мышц и в анаэробных условиях, поскольку катализируют превращение пирувата в лактат, тогда как изомеры ЛДГ, содержащие аэробные Н-субъединицы, функционируют в тканях миокарда и, в основном, в аэробных условиях, конвертируя лактат в пируват. Соотношение изоферментов ЛДГ, указывая на

аэробный или анаэробный путь синтеза АТФ, служит показателем метаболического состояния ткани в ходе индивидуального развития.

Цель данной работы – изучить распределение изоферментов лактатдегидрогеназы в разных органах у щенков фермерских голубых песцов *Alopex lagopus* L. в возрасте от 15 до 210 сут. после рождения.

Материал и методы

Объектами исследования были разводимые в неволе голубые песцы (*Alopex lagopus* L.). Животные были выращены в зверохозяйстве ЗАО «Пряжинское» (Республика Карелия). Образцы сердца, почек, селезенки, легких, скелетной мышцы *m. biceps femoris*, печени до проведения биохимического анализа хранили в холодильной камере при -25°C . Для исследования изоферментного спектра ЛДГ готовили гомогенаты тканей в 0,05 М фосфатном буфере, рН 7,0 и оставляли для экстракции фермента на 16-18 ч в холодильнике при $+4^{\circ}\text{C}$. На следующий день образцы центрифугировали при 6000 g в течение 15 мин. и в супернатантах проводили разделение изоферментов ЛДГ методом горизонтального энзимэлектрофореза на пластинках агарового геля (Wieme, 1959). После гистохимического окрашивания, фиксирования, высушивания и сканирования образцов проводили количественную оценку соотношения изоферментов ЛДГ с помощью компьютерной программы «Видеотест». Содержание каждого изофермента, а также М- и Н-субъединиц ЛДГ выражали в процентах от их общего количества. Методы выделения, разделения и определения изоферментов ЛДГ были описаны нами более подробно ранее (Унжаков, Тютюнник, 2016а,б, Антонова и др., 2018). Учитывая, что исследуемый фермент имеет тетрамерное строение, суммарное содержание Н- и М-субъединиц рассчитывали соответственно по формулам в процентах:

$$H = \text{ЛДГ-1} + 0,75 * \text{ЛДГ-2} + 0,5 * \text{ЛДГ-3} + 0,25 * \text{ЛДГ-4};$$

$$M = 0,25 * \text{ЛДГ-2} + 0,5 * \text{ЛДГ-3} + 0,75 * \text{ЛДГ-4} + \text{ЛДГ-5}.$$

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Результаты и обсуждение

Строгая сезонная цикличность размножения разводимых в зоокультуре песцов является одним из консервативных признаков, сохранившихся в ходе доместикации. Моноэстричность у этих арктических представителей собачьих – это физиологическое свойство, обеспечивающих выживаемость молодняка только при рождении весной, быстром и интенсивном росте и развитии в период короткого северного лета и полном созревании к зиме. Считается, что основным внешним синхронизатором этого внутреннего биоритма является свет, поскольку действие этого фактора было наиболее стабильным в течение всего периода эволюции.

Период индивидуального развития у животных и человека охватывает весь жизненный цикл от момента оплодотворения яйцеклеткой до старости и смерти. У песцов, как и у других млекопитающих, выделяют ряд возрастных этапов, которые характеризуются физиологическими и биохимическими особенностями. Период роста, который у песцов продолжается до 6-мес. возраста, характеризуется интенсивным увеличением массы тела, усиленным формированием морфофизиологических и биохимических особенностей организма (Берестов, Кожевникова, 1981).

В таблицах 1-6 представлены данные по возрастной динамике распределения электрофоретических фракций ЛДГ в сердце, почках, селезенки, легких, скелетной мышце *m. biceps femoris*, печени у щенков песцов в период роста от 15 дней до 210 суток. При анализе спектров изоферментов ЛДГ в различных тканях у песцов (табл. 1-4) выявляются как общие

закономерности распределения электрофоретических фракций в соответствии с типом метаболизма тканей, так и различия, связанные с периодами постнатального развития. В исследуемых тканях животных фермент, как правило, представлен пятью молекулярными формами – от «быстрой» анодной фракции ЛДГ-1 до «медленной» – катодного изофермента ЛДГ-5.

Сердце млекопитающих, для которого в качестве энергетического субстрата лактат является более предпочтительным, чем глюкоза, в классическом представлении является органом с преобладанием первой и второй анодных фракций ЛДГ-1 и ЛДГ-2 (Хочачка, Сомеро, 1988). Метаболизм в сердечной мышце в ответ на доступность кислорода и субстрата изменяется в ходе онтогенеза. Незрелое сердце относительно больше зависит от анаэробного гликолиза, используя глюкозу в качестве основного энергетического субстрата, тогда как зрелое сердце почти исключительно аэробное, а незатерифицированные жирные кислоты используются в качестве преобладающего источника (Bass et al., 2001). Сразу после рождения адаптация к резкому увеличению физической нагрузки стимулирует гипертрофический рост миоцитов желудочков сердца. Это приводит к морфологической и функциональной перестройке ткани миокарда (Novak et al., 2006). В сердечной мышце взрослых гомеотермных животных преобладает аэробный метаболизм (Bass et al., 2001). Основными субстратами, используемыми миокардом желудочков сердца, являются липиды и углеводы. С другой стороны, метаболизм у эмбриона, в основном, анаэробный, и это адаптивное свойство сохраняется в течение всего неонатального периода развития. Высокие запасы гликогена, которые характеризуют эмбриональный и новорожденный миокард, необходимы для повышения толерантности к гипоксии, но они быстро снижаются после рождения. Следует отметить, что в эксперименте на сусликах (Burlington, Sampson, 1968) было продемонстрировано, что доля субъединиц ЛДГ М-типа (каковыми являются ЛДГ-4 и ЛДГ-5) значительно увеличивалась в сердечной мышце во время гибернации, т.е. в период физиологического покоя.

Таблица 1. Изменения изоферментных спектров ЛДГ в сердечной мышце у песцов в постнатальном периоде развития (M±m)

Возраст, сут.	n	Фракции ЛДГ					ЛДГ ₁ / ЛДГ ₅	Субъединицы	
		ЛДГ-1	ЛДГ-2	ЛДГ-3	ЛДГ-4	ЛДГ-5		Н-	М-
15	5	40,7±1,4	38,2±1,3	13,5±2,9	4,3±0,5	3,3±0,4	12,3	77,2	22,8
25	5	47,2±1,6	36,9±0,7	8,5±0,6	5,1±0,8	2,3±0,7	20,5	80,4	19,6
60	6	54,9±1,2*	35,2±1,8	4,6±1,3*	3,4±0,3	1,9±0,3	28,9	84,5	15,5
90	9	57,0±0,9	35,7±1,1	3,5±0,6	3,8±0,4	0	–	85,5	13,5
120	6	53,3±1,9**	36,3±2,0	2,4±0,4	6,1±1,1	1,9±0,3	28,1	83,3	16,7
150	6	46,7±1,1*	44,2±1,7*	4,9±0,6*	2,8±0,3*	1,4±0,4	33,4	83,0	17,0
180	6	55,4±2,8*	37,6±2,1*	1,9±0,5**	4,2±1,2	0,9±0,2	61,6	85,6	14,4
210	21	54,2±1,1	36,1±0,7	4,2±0,5	3,0±0,4	2,5±0,4	21,7	84,2	15,8

Примечание: здесь и далее в таблицах: *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 по U-критерию Вилкоксона-Манна-Уитни по отношению к предыдущему возрасту

В тканях сердца через 15 сут. после рождения у щенков песцов наблюдался высокий уровень анодных изоферментов ЛДГ, суммарное содержание которых составляла около 80%. Относительное содержание ЛДГ-3 варьировало от 8 до 13%. Значения катодных изоферментов ЛДГ-4 и ЛДГ-5 были низкими. В 60-суточном возрасте происходило существенное перераспределение относительного содержания фракций. В результате этого у двухмесячных зверей изоферментный спектр ЛДГ тканей сердца соответствовал таковому у семимесячных животных, созревших и готовых к плановому забою. Суммарное содержание ЛДГ-1+ЛДГ-2 составляло 90%. У трехмесячных животных в тканях сердца полностью исчезла

ЛДГ-5 и несколько увеличилась ЛДГ-1. У четырехмесячных щенков песцов уровень ЛДГ-1 упал до значений, наблюдаемых у двухмесячных зверей, и на энзимограммах стала проявляться пятая фракция фермента. В пятимесячном возрасте содержание двух анодных фракций выравнивалось (сумма ЛДГ-1 + ЛДГ-2 осталась прежней), существенно повысился уровень ЛДГ-3 и снизился ЛДГ-4.

Таблица 2. Изменения изоферментных спектров ЛДГ в почках у песцов в постнатальном периоде развития (M±m)

Возраст, сутки	N	Фракции ЛДГ					ЛДГ ₅ /ЛДГ ₁	Субъединицы	
		ЛДГ-1	ЛДГ-2	ЛДГ-3	ЛДГ-4	ЛДГ-5		Н-	М-
15	5	19,7±1,9	13,1±1,7	18,0±0,8	21,4±2,1	27,8±2,4	1,4	43,9	56,1
25	5	28,4±0,9**	20,6±1,0**	17,4±0,8	13,0±1,4*	20,6±0,7	0,7	55,8	44,2
60	6	32,4±1,7	16,4±0,9	13,1±0,9	13,2±1,5	24,9±1,1	0,8	54,6	45,4
90	9	26,1±0,7**	14,7±0,8	18,8±0,7***	16,4±0,6	24,0±0,9	0,9	50,6	49,4
120	6	35,9±3,2	15,2±3,4	7,0±2,2***	10,8±1,6**	31,1±4,9	0,9	53,5	46,5
150	6	30,5±1,3	13,5±1,0	7,6±1,1	11,5±0,6	36,9±2,3	1,2	47,3	52,7
180	6	35,7±2,8	16,0±2,3	6,1±1,4	7,6±1,8*	34,6±2,8	1,0	52,6	47,4
210	21	36,9±1,4	15,0±1,0	7,3±0,6	10,1±0,8	30,7±1,9	0,8	54,3	45,7

Изоферментный спектр ЛДГ тканей сердца 6-месячных щенков незначительно отличался от 7-месячных зверей. Эти различия коснулись изоэнзима ЛДГ-3, содержание которого было существенно ниже, чем у 7- и 5-месячных песцов. Таким образом, во все возрастные периоды в тканях сердца песцов самой высокой активностью обладали анодные фракции. При этом содержание ЛДГ-1 было выше, чем ЛДГ-2, а их суммарное количество с возрастом нарастало.

Таблица 3. Изменения изоферментных спектров ЛДГ в селезенке у песцов в постнатальном периоде развития (M±m)

Возраст, сутки	N	Фракции ЛДГ					ЛДГ ₅ /ЛДГ ₁	Субъединицы	
		ЛДГ-1	ЛДГ-2	ЛДГ-3	ЛДГ-4	ЛДГ-5		Н-	М-
15	5	1,3±0,9	13,7±2,9	33,7±3,8	20,6±2,0	30,7±3,1	23,6	33,6	66,4
25	5	5,7±1,4*	18,3±2,6	35,3±1,4*	15,3±1,3	25,3±2,0	4,4	41,0	59,0
60	6	8,8±2,8	21,9±1,3	35,3±1,4	16,5±2,0	17,6±1,5	2,0	46,9	53,1
90	9	2,2±0,4*	23,3±0,8	35,4±0,7	17,7±1,0	21,4±0,4	9,7	41,8	58,2
120	6	2,9±1,9	24,1±2,6	37,4±1,1	16,4±1,8	19,2±1,9	6,6	43,8	56,2
150	6	3,7±1,1	24,5±0,9	34,9±0,9	16,4±0,9	20,4±0,7	5,5	43,7	56,3
180	6	2,2±0,4	28,8±0,9**	37,8±1,7	12,0±1,6*	19,3±0,9	8,8	45,7	54,3
210	21	6,3±1,0	24,7±1,2	36,2±1,2	15,9±1,0	16,9±0,9	2,7	46,9	53,1

Таблица 4. Изменения изоферментных спектров ЛДГ в легких у песцов в постнатальном периоде развития (M±m)

Возраст, сутки	N	Фракции ЛДГ					ЛДГ ₅ /ЛДГ ₁	Субъединицы	
		ЛДГ-1	ЛДГ-2	ЛДГ-3	ЛДГ-4	ЛДГ-5		Н-	М-
15	5	7,2±1,9	18,3±4,1	26,1±2,3	16,7±3,7	31,8±2,6	4,4	38,1	61,9
25	5	7,3±2,0	24,8±3,0	31,0±1,0	11,7±1,3	25,2±3,4*	3,5	44,3	55,7
60	6	21,1±2,8***	19,8±1,6	21,1±1,7**	12,9 ± 0,8	25,2±2,6	1,2	49,7	50,3
90	9	12,8±0,8	19,2±0,8	22,0±0,9	17,2±0,5***	28,9±1,3	2,3	42,5	57,5
120	6	3,6±1,6	14,1±1,7*	21,6±1,3	17,5±2,8	43,2±1,9**	12,0	29,4	70,6
150	6	6,7±1,6	20,6±0,4**	22,9±0,4	12,6±1,0	37,2±1,8*	5,6	36,8	63,2
180	6	5,2±1,0	19,3±0,8	24,8±1,9	9,8±0,8*	40,9±2,2	7,9	34,5	65,5
210	21	17,0±1,9	22,5±0,9	21,8±1,4	14,0±1,3	24,7±2,3	1,5	48,3	51,7

Таблица 5. Изменения изоферментных спектров ЛДГ в скелетной мышце (*m. biceps femoris*) у песцов в постнатальном онтогенезе (M±m)

Возраст, сутки	N	Фракции ЛДГ					ЛДГ ₅ /ЛДГ ₁	Субъединицы	
		ЛДГ-1	ЛДГ-2	ЛДГ-3	ЛДГ-4	ЛДГ-5		Н-	М-
15	5	0	2,8±1,2	10,3±2,9	20,1±2,5	66,8±3,2	0	12,3	87,7
25	5	5,2±2,3	11,0±0,9***	16,1±1,9	15,8±3,0	51,9±3,3	10,0	25,4	74,6
60	6	4,7±1,0	12,6±2,1	11,3±1,7	13,0±2,2	58,4±3,5	12,4	23,0	77,0
90	9	5,2±0,7	14,7±1,8	8,6±1,3	9,2±2,2	62,3±3,8	12,0	22,8	77,2
120	6	6,9±1,7	9,6±2,0	3,0±0,9	10,8±1,4	69,7±4,2	10,1	18,3	81,7
150	6	10,6±2,0	14,0±1,6	7,4±2,0	13,9±1,5	54,1±1,9**	5,1	28,3	71,7
180	6	9,5±1,7	17,0±1,0	3,8±0,7	5,7±0,4***	64,0±2,0**	6,7	25,6	74,4
210	21	23,4±2,2	16,4±1,5	6,2±0,7	8,9±1,0	45,1±2,3	1,9	41,0	59,0

Почки выполняют жизненно важные функции, влияющие на состояние метаболизма в организме животного. Основной функцией этого органа является выведение из организма животного нелетучих продуктов метаболизма, ядов, токсинов. Не менее важна роль почек в поддержании баланса жидкости и электролитов, регуляции артериального давления, кислотно-щелочного гомеостаза, обмена кальция, процессов эритропоэза (Мостофи, Смит, 1972; Василевский, 2004). Почки потребляют большое количество кислорода, что объясняется их интенсивным кровоснабжением. К моменту рождения животных почка остаётся функционально незрелой с низкой скоростью клубочковой фильтрации, ограниченной реабсорбцией натрия и невысокой способностью концентрирования мочи (Marquez et al., 2002). В новорожденный период развития щенки начинают питаться кормом белкового происхождения, в организме образуется мочевины, что обуславливает увеличение функциональной активности почек (Мостофи, Смит, 1972). Частичная функциональная незрелость работы почек может продолжаться в послеотъёмный период.

Таблица 6. Изменения изоферментных спектров ЛДГ в печени у песцов в постнатальном онтогенезе (M±m)

Возраст, сутки	N	Фракции ЛДГ					ЛДГ ₅ /ЛДГ ₁	Субъединицы	
		ЛДГ-1	ЛДГ-2	ЛДГ-3	ЛДГ-4	ЛДГ-5		Н-	М-
15	5	0	10,1±1,0	33,5 ± 1,0	31,8±0,3	24,6±1,4	–	32,3	67,7
25	5	0,1±0,4	12,7±1,6	33,4 ± 2,3	30,0±1,4	23,8±1,9	238,0	33,8	66,2
60	6	1,2±0,4*	3,6±0,9***	25,1 ± 1,7*	26,6±2,4	43,5±2,8**	36,3	23,1	76,9
90	9	1,1±0,4	4,2±0,5	14,3 ± 2,6	24,2±1,3	56,2±1,3*	51,1	17,4	82,6
120	6	0	0,2±0,2**	1,9 ± 0,7	16,3±0,9***	81,6±1,5***	–	5,2	94,8
150	6	4,5±1,3**	6,2±1,1**	6,3 ± 1,4*	11,4±1,3**	71,6±2,7	15,9	15,1	84,9
180	6	4,8±1,2	1,6±0,5	4,6 ± 1,1	8,9±0,9	80,1±2,3*	16,7	10,5	89,5
210	21	8,6±1,1	6,0±0,9	7,9 ± 0,8	9,5±1,4	68,0±1,8	7,9	19,4	80,6

Высокая способность к концентрации мочи (как у взрослых особей) у крыс появляется к 6-недельному возрасту и к 18 месяцам после рождения детёнышей (Aperia, Celsi, 1992). Почки в полном объеме функционируют при окончательном развитии всей структуры нефронов и системы почечных канальцев. Рост и созревание почки также продолжают после завершения нефрогенеза; считается, что у крыс нефроны достигают терминальной дифференциации к периоду отъёма от матерей (Marquez et al., 2002).

Для тканей почек песцов было характерным высокое суммарное содержание как анодных, так и катодных фракции фермента (табл. 2). Через 15 сут. после рождения у щенков суммарное содержание ЛДГ-4+ЛДГ-5 составляло почти половину общего содержания ЛДГ, тогда как содержание анодных фракции равнялось 32,8%. Статистически значимыми были изменения этого соотношения у 25-суточных щенков; в результате коэффициент отношения ЛДГ₅/ЛДГ₁ снизился в 2 раза по сравнению с предыдущим периодом, что может быть связано

с началом употребления дефинитивного корма и перестройкой органов мочеобразования. Значения данного коэффициента на протяжении всего онтогенеза держался в пределах 0,7 – 0,9 и лишь у пятимесячных щенков поднялся до 1,2. Изоферментный профиль ЛДГ тканей почек у 4-месячных песцов был близким к таковому у 7-месячных животных.

Изучение **селезенки** как вторичного лимфоидного органа иммунной системы пушных зверей клеточного содержания имеет значение для профилактики болезней, таких как анемия, мочекаменная болезнь, хронический стресс, а также для теоретического обоснования мероприятий, связанных с сохранностью поголовья (Берестов, 2002). У песцов цвет органа варьирует от красно-фиолетового до вишневого цвета. Селезенка у них дорсовентрально вытянута, с округленными концами и прямыми краями. Относительная масса селезенки у песцов – $0.15 \pm 0.01\%$ (Клещенков, Сайванова, 2014). Известно, что в селезенке происходит депонирование зрелых клеток крови, фагоцитоз инородных частиц, обезвреживание токсинов, созревание лимфоцитов и перерождение моноцитов в макрофаги. Кроме того, в селезенке разрушаются старые эритроциты и тромбоциты. Все эти процессы требуют определенных энергетических затрат (Schulte-Hostedde et al., 2012). Особенно важную роль в депонировании клеток и выработке иммунитета селезенка играет в постнатальном онтогенезе (Капитонова и др., 2007).

В изоферментном профиле ЛДГ селезенки – самом крупном органе иммунной системы у песцов – присутствовали все 5 фракций фермента (табл. 3). Во все возрастные периоды преобладала гибридная фракция ЛДГ-3, содержание которой варьировало от $33,7 \pm 3,8\%$ у 15-суточных до $37,8 \pm 1,7$ у 180-суточных. Существенные перестройки в изоферментном спектре ЛДГ тканей селезенки произошли у двухмесячных щенков. В этот период почти на треть снизилось количество ЛДГ-5 по сравнению с месячными щенками при одновременном увеличении фракции ЛДГ-1. В результате этих изменений коэффициент отношения $ЛДГ_5/ЛДГ_1$ снизился до 2.0 и стал на порядок ниже, чем у 15-суточных щенков (23,1).

Лёгкие. У голубых песцов они имеют расширенно – укороченную форму и типичное долево-строение. У изученных животных правое легкое состоит из 4, левое легкое – из 3 долей (Гирфанов, Гирфанова, 2013). Кроме обеспечения газообмена, лёгкие, как и селезенка, служат резервуаром крови в организме. Так объём крови в лёгких у человека составляет около 450 мл, т.е. в среднем около 9% от общего объёма крови в системе кровообращения. Это количество легко может изменяться в два раза в ту или другую сторону от нормального объёма. Потеря крови из большого круга кровообращения при кровотечении может быть частично компенсирована выбросом крови из лёгких в кровеносную систему.

Изоферментный профиль ЛДГ тканей легких во все возрастные этапы, начиная с 15-суточного возраста, у щенков песцов был представлен пятью фракциями фермента (табл.4). В подсосный период (у 15- и 25-суточных животных) уровни ЛДГ-3 и ЛДГ-5 были приблизительно равными и значительными, затем в порядке убывания располагались фракция ЛДГ-2, после неё – ЛДГ-4, самое низкое содержание имела ЛДГ-1. В период после отсадки от матерей у двухмесячных щенков в изоферментном спектре ЛДГ лёгких произошли существенные перестройки. В три раза увеличилось содержание ЛДГ-1 ($P < 0,001$) и на треть по сравнению с месячным возрастом упало содержание ЛДГ-3 при стабильном фоне ЛДГ-5. В результате этих перестроек коэффициент отношения $ЛДГ-5/ЛДГ-1$ упал в 3 раза и стал наименьшим за весь период постнатального развития (табл. 4). Значимые перестройки изозимного спектра ЛДГ легких песцов наблюдались и у 4-месячных зверей., когда на треть увеличилось содержание ЛДГ-5 ($P < 0,001$) и упало содержание фракции ЛДГ-1 ($P < 0,01$) и ЛДГ-2 ($P < 0,05$). Изозимный спектр ЛДГ лёгких у шестимесячных щенков отличался от таковых семимесячных созревших песцов более высоким содержанием ЛДГ-5 и низким – ЛДГ-1.

Система **скелетных мышц** присуща лишь высшим позвоночным (в отличие от всех других животных), она построена из поперечно - исчерченных мышц и дифференцирована на более 200 мускулов. Скелетные мышцы составляют около 40% массы тела животных и

выполняют жизненно важные функции локомоции. Исследованная нами двуглавая мышца бедра *m. biceps femoris* содержит мышечные волокна двух типов с преобладанием быстрых гликолитических (Harrison et al., 1997; Ishida et al., 2017). Эти мышцы используют преимущественно анаэробную систему энергообразования, способствующую образованию лактата.

В постнатальном онтогенезе песцов можно выделить ряд стадий, когда происходили статистически значимые перестройки в изоэнзимном профиле ЛДГ скелетных мышц (табл. 5). Наибольшее содержание во все периоды онтогенеза характерно для фракции ЛДГ-5 – 50-70% от общего содержания ЛДГ. У 15-суточных щенков сумма катодных изоферментов ЛДГ-4 и ЛДГ-5 достигала 86% при параллельном отсутствии в изоферментном профиле ЛДГ-1 и крайне низком уровне изофермента ЛДГ-2. К 25-суточному возрасту на энзимограммах стала появляться первая фракция ЛДГ, а содержание ЛДГ-2 возросло более чем в 3 раза ($P < 0,001$) при одновременном падении суммы катодных изоэнзимов. На более поздних этапах периода роста животных статистически значимые изменения в соотношении фракций ЛДГ наблюдались лишь у шестимесячных щенков. Однако, при анализе в целом изоэнзимного спектра ЛДГ скелетных мышц песцов необходимо выделить 4-х месячный возраст, когда суммарное содержание катодных форм фермента было наиболее высоким – 80,5% от общего содержания ЛДГ. У пятимесячных животных эта сумма значительно снизилась, в результате чего коэффициент отношения ЛДГ-5/ЛДГ-1 упал вдвое с 10,1 до 5,1.

Печень млекопитающих определяется, как полифункциональный орган: на фоне главной функции в составе аппарата пищеварения, она выполняет десятки других, предопределённых, прежде всего, активным её участием в метаболических реакциях (Покровский, Крыстев, 1977).. Известно, что в печени проявляется наиболее выраженная видовая специфика в распределении изоферментов ЛДГ (O'Carra, Mulcahy, 1990; Унжаков и др., 2013). Для этого органа характерна высокая степень анаэробного метаболизма. Подтверждением этого является высокое суммарное содержание анаэробных фракций ЛДГ-4 и ЛДГ-5 в изоферментном профиле ЛДГ, которое варьировало от 53,8% в 25-сут. до 97,9% в 120-сут. возрасте (табл. 6). Период раннего (15-25 сут.) онтогенеза у щенков характеризовался стабильным соотношением изоферментов ЛДГ печени (табл. 6); при этом содержание изофермента ЛДГ-4 было выше, чем ЛДГ-5, сумма катодных форм составила более половины общего содержания ЛДГ. Треть приходилась на долю ЛДГ-3, 10% – на ЛДГ-2, первая фракция практически отсутствовала. Статистически значимые изменения в изоферментном спектре ЛДГ печени песцов произошли в 2-мес. возрасте. Почти вдвое повысилось содержание изофермента ЛДГ-5 ($P < 0,01$) и снизилось количество изоэнзима ЛДГ-2 ($P < 0,01$). На энзимограммах стала проявляться фракция ЛДГ-1. В последующие четыре месяца также происходили перестройки изоэнзимного профиля ЛДГ печени. С возрастом нарастало содержание фракции ЛДГ-5 и постепенно падал уровень изоферментов ЛДГ-4 и ЛДГ-3. Особенно выделяется четырехмесячный возраст, когда в изоферментном профиле печени полностью исчезла фракция ЛДГ-1, самым низким было содержание изоэнзимов ЛДГ-2 и ЛДГ-3, а доля анодных изоферментов ЛДГ-4 и ЛДГ-5 выросла до 97,8% от общего содержания ЛДГ.

Заключение

Таким образом, изоферментные профили ЛДГ исследованных органов у растущих песцов можно разделить на три группы, отражающие тип метаболизма тканей. В органах, которым присущ аэробный тип энергопродукции – в сердце и почках, суммарное содержание анодных изоферментов ЛДГ-1 и ЛДГ-2 во все периоды онтогенеза выше, чем катодных. В другой группе тканей – печени и скелетных мышцах, которым свойственен анаэробный тип обмена, основная часть фермента приходится на катодные изоферменты ЛДГ-4 и ЛДГ-5, независимо от возраста животных. К третьей (промежуточной) группе тканей относится селезенка и легкие. Содержание анодных фракций в этих органах приближается к содержанию

катодных. В период раннего онтогенеза (первые два месяца жизни) у песцов в основном завершается формирование изоферментных спектров ЛДГ в исследованных органах, наблюдается тканевая специфичность в соответствии с типом метаболизма.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0221-2017-0052).

ЛИТЕРАТУРА

1. Баймишев Х.Б., Криштофорова Б.В., Лемещенко В.В., Стегней Ж.Г., Хрусталева И.В. Биологические основы ветеринарной неонатологии. – Самара: РИЦ СГСХА, 2013. – 452 с.
2. Василевский И.Н. Структурно-функциональная характеристика почек у норок и песцов при применении кормовых добавок природных сорбентов: автореф. дисс... к.в.н. – Казань, 2004. – 19 с.
3. Волошин Д. Поможет энзимодиагностика // Животноводство России. – 2018. – № 1. – С. 29-31.
4. Гирфанов А.И., Гирфанова Ф.Г. Топография междолевых вырезок в легких у песца голубого // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины. – 2013. – Т. 216. – С. 100-103.
5. Глазко В.И. Генетика изоферментов сельскохозяйственных животных // В сб.: Итоги науки и техники. Серия общей генетики. – М.: ВИНТИ, 1988. – Т. 10. – С. 1-212.
6. Капитонова М.Ю., Краюшкин А.И., Рябикина А.И., Нестерова А.А. Развитие селезенки в раннем постнатальном онтогенезе // Вестник Волгоградского ГМУ. – 2007. – № 4. – С. 56-59.
7. Клещенков М.В., Сайванова С.А. Анатомические особенности селезенки скандинавской норки сканблэк и песца серебристой породы // Актуальные вопросы аграрной науки. – 2014. – № 10. – С. 35-38.
8. Корочкин Л.И., Серов О.А., Пудовкин А.И. и др. Генетика изоферментов. – М.: Наука, 1977. – 275 с.
9. Михайлова А.Е. Рост и окислительный метаболизм у молодняка песцов в условиях Таймыра: автореф. дисс. ... к.с/х.н. – Петрозаводск, 1975. – 24 с.
10. Мостофи Ф.К., Смит Д.Е. Почки – М.: Медицина, 1972. – 464 с.
11. Покровский А.А., Крыстев Л.П. Печень, лизосомы и питание. – София: изд. Болгарской академии наук, 1977. – 208 с.
12. Райдер К., Тейлор К. Изоферменты. – М.: Мир, 1983. – 106 с.
13. Тютюнник Н.Н., Кожевникова Л.К., Унжаков А.Р., Мелдо Х.И. Изоферментные спектры лактатдегидрогеназы органов пушных зверей различного экогенеза // Журн. эвол. биох. и физиол. – 2005. – Т. 41. – № 3. – С. 240-246.
14. Унжаков А.Р., Тютюнник Н.Н., Хижкин Е.А., Паркалов И.В. Распределение изоферментов лактатдегидрогеназы в органах у представителей семейства собачьих // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2012. – № 3. – С.44-51.
15. Унжаков А.Р., Тютюнник Н.Н., Белкин В.В., Антонова Е.П. Изоферментные спектры лактатдегидрогеназы печени у диких и разводимых в неволе животных // Проблемы биологии продуктивных животных, – 2013. – № 4. – С.61-66.
16. Унжаков А.Р., Тютюнник Н.Н. Изоферментные спектры лактатдегидрогеназы в тканях енотовидных собак *Nyctereutes procyonoides* в осенний период // Биофизика. – 2016. – Т. 61. – № 4. – С. 758-765.
17. Хочачка П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация. – М.: Мир, 1988. – 568 с.
18. Aperia A., Celsi G. Ontogenic processes in nephron epithelia // In: Seldin DW, Giebish G. (Eds). The kidney: physiology and pathophysiology. – New York: Raven Press, 1992. – P. 803-828
19. Bass A., Stejskalova M., Stieglarova A., Tadal B. O., Amanek M. Ontogenetic development of energy-supplying enzymes in rat and guinea-pig heart // Physiol. Res. – 2001. – Vol. 50. – P. 237-245.
20. Burlington R.F., Sampson J.H. Distribution and activity of lactic dehydrogenase isozymes in tissues from a hibernator and a non-hibernator // Comp. Biochem. Physiol. – 1968. – Vol. 25. – P. 185-192.
21. Everse J., Kaplan O.N. Lactate dehydrogenase: structure and functions // Adv. Enzymol. – 1973. – Vol. 37. – P. 61-133.
22. Favero G.T., Stavriaanes S., Klug G.A. Training-induced alterations in lactate dehydrogenase reaction kinetics in rats: a re-examination // Exp. Physiol. – 1999. – Vol. 84. – P. 989-998.
23. Lin Y. Q., Wang G. S., Feng J. Comparison of enzyme activities and gene expression profiling between yak and bovine skeletal muscles // Livest. Sci. – 2011. – Vol. 135. – No. 1. – P. 93-97.

24. Marquez M.G., Cabrera I., Serrano D. J., Sterin-Speziale N. Cell proliferation and morphometric changes in the rat kidney during postnatal development // *Anat. Embryol.* – 2002. – Vol. 205. – P.431-440
25. Nadal-Ginard B. Regulation of lactate dehydrogenase levels in the mouse // *J. Biol. Chem.* – 1978. – Vol. 253. – No. 1. – P. 170-178.
26. Novak F., Tvrzicka E., Hamplova B., Kolar F., Novakova O. Postnatal development of phospholipids and their fatty acid profile in rat heart // *Mol. Cell. Biochem.* – 2006. – Vol. 293. – No 1-2. – P. 23-33.
27. O'Carra P., Mulcahy P. Tissue distribution of mammalian lactate dehydrogenase isoenzymes // *Biochem. Soc. Trans.* – 1990. – Vol. 18. – No. 2. – P. 272-274.
28. Schulte-Hostedde A.I., Bowman J., Nituch L.A. Dynamic spleen mass in wild and domestic American mink // *Biol. J. Linnean Soc.* – 2012. – Vol. 107. – P. 624-631.

REFERENCES

1. Aperia A., Celsi G. Ontogenic processes in nephron epithelia. In: Seldin D.W., Giebish G. (eds) *The kidney: physiology and pathophysiology*. New York: Raven Press, 1992: 803-828.
2. Baimishev Kh.B., Krishtoforova B.V., Lemeshchenko V.V., Stegnei Zh.G., Khrustaleva I.V. *Biologicheskie osnovy veterinarnoi neonatologii* (Biological basis of veterinary neonatology). Samara: RITs SGSKhA Publ., 2013, 452 p.
3. Bass A., Stejskalova M., Stieglerova A., Āadal B. O., Amanek M. Ontogenetic development of energy-supplying enzymes in rat and guinea-pig heart. *Physiol. Res.* 2001, 50: 237-245.
4. Burlington R.F., Sampson J.H. Distribution and activity of lactic dehydrogenase isozymes in tissues from a hibernator and a non-hibernator. *Comp. Biochem. Physiol.* 1968, 25: 185-192.
5. Everse J., Kaplan O.N. Lactate dehydrogenase: structure and functions. *Adv. Enzymol.* 1973, 37: 61-133.
6. Favero G.T., Stavriaanes S., Klug G.A. Training-induced alterations in lactate dehydrogenase reaction kinetics in rats: a re-examination. *Exp. Physiol.* 1999, 84: 989-998.
7. Girfanov A.I., Girfanova F.G. [The topography of the interlobar scrapings in the lungs of blue fox]. *Uchenye zapiski Kazanskoi gosudarstvennoi akademii veterinarnoi meditsiny im. N.E. Baumana - Scientific Notes of Bauman Kazan State Academy of Veterinary Medicine.* 2013, 216: 100-103 (In Russian).
8. Glazko V.I. [Genetics of isoenzymes of farm animals]. In: *Itogi nauki i tekhniki. Seriya obshchei genetiki* (The results of science and technology. A series of general genetics). Moscow: VINITI Publ., 1988, Vol. 10, P. 1-212.
9. Khochachka P., Somero Dzh. *Biokhimicheskaya adaptatsiya* (Biochemical adaptation). Moscow: Mir Publ., 1988, 568 p.
10. Kapitonova M.YU., Krayushkin A.I., Ryabikina A.I., Nesterova A.A. [Development of the spleen in early postnatal ontogenesis]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta - Bulletin of Volgograd State Medical University.* 2007, 4: 56-59.
11. Kleshchenkov M.V., Saivanova S.A. [Anatomic features of the spleen of Scandinavian mink scandle and silver fox]. *Aktual'nye voprosy agrarnoi nauki - Actual questions of agrarian science.* 2014, 10: 35-38.
12. Korochkin L.I., Serov O.A. et al. *Genetika izofermentov* (Genetics of isoenzymes). Moscow: Nauka Publ., 1977, 275 p.
13. Lin Y. Q., Wang G. S., Feng J. Comparison of enzyme activities and gene expression profiling between yak and bovine skeletal muscles. *Livest. Sci.* 2011, 135(1): 93-97.
14. Marquez M.G., Cabrera I., Serrano D. J., Sterin-Speziale N. Cell proliferation and morphometric changes in the rat kidney during postnatal development. *Anat. Embryol.* 2002, 205: 431-440
15. Mikhailova A.E. *Rost i okislitel'nyi metabolizm u molodnyaka pestsov v usloviyakh Taimyra* (Growth and oxidative metabolism in young Arctic foxes in Taimyr conditions). Extended Abstract of Diss. Cand. Sci. Agr., Petrozavodsk, 1975, 24 p.
16. Mostofi F.K., Smit D.E. *Pochki* (Kidneys). Moscow: Meditsina Publ., 1972, 464 p.
17. Nadal-Ginard B. Regulation of lactate dehydrogenase levels in the mouse. *J. Biol. Chem.* 1978, 253(1): 170-178.
18. Novak F., Tvrzicka E., Hamplova B., Kolar F., Novakova O. Postnatal development of phospholipids and their fatty acid profile in rat heart. *Mol. Cell Biochem.* 2006, 293(1-2): 23-33.
19. O'Carra P., Mulcahy P. Tissue distribution of mammalian lactate dehydrogenase isoenzymes. *Biochem. Soc. Trans.* 1990, 18(2): 272-274.
20. Pokrovskii A.A., Krystev L.P. *Pechen', lizosomy i pitanie* (Liver, lysosomes and nutrition). Sofiya: Izd. Bolgarskoi akademii nauk, 1977, 208 p.

21. Raider K., Teilor K. *Izofermenty* (Isoenzymes). Moscow: Mir Publ., 1983, 106 p.
22. Schulte-Hostedde A.I., Bowman J., Nituch L.A. Dynamic spleen mass in wild and domestic American mink. *Biol. J. Linnean Soc.* 2012, 107: 624-631.
23. Tyutyunnik N.N., Kozhevnikova L.K., Unzhakov A.R., Meldo Kh.I. [Isozyme spectra of lactate dehydrogenase of organs of fur animals of different ecogenesis]. *Zhurnal evolyutsionnoi biokhimii i fiziologii - J. Evol. Biochem. Physiol.* 2005, 41(3): 240-246.
24. Unzhakov A.R., Tyutyunnik N.N., Khizhkin E.A., Parkalov I.V. [Distribution of isoenzymes of lactate dehydrogenase in organs in representatives of the canine family]. *Problemy biologii produktivnykh zivotnykh - Problems of Productive Animal Biology.* 2012, 3: 44-51.
25. Unzhakov A.R., Tyutyunnik N.N., Belkin V.V., Antonova E.P. [Isozyme spectra of liver lactate dehydrogenase in wild and captive-bred animals]. *Problemy biologii produktivnykh zivotnykh - Problems of Productive Animal Biology.* 2013, 4: 61-66.
26. Unzhakov A.R., Tyutyunnik N.N. [Isozyme spectra of lactate dehydrogenase in the tissues of the raccoon dog *Nyctereutes procyonoides* in the autumn]. *Biofizika - Biophysics.* 2016, 61(4): 640-646.
27. Vasilevskii I.N. *Strukturno-funktsional'naya kharakteristika pochek u norok i pestsov pri primenenii kormovykh dobavok prirodnykh sorbentov* (Structural and functional characteristics of kidneys in mink and Arctic foxes when using feed additives of natural sorbents). Extended Abstract of Diss. Cand. Sci. Vet., Kazan', 2004, 19 p.
28. Voloshin D. [Enzymodiagnosics will help]. *Zhivotnovodstvo Rossii - Animal Husbandry in Russia.* 2018, 1: 29-31.

**Ontogenetic formation of isofermental
spectra of lactate dehydrogenase of different organs in arctic foxes**

Unzhakov A.R.

*Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Science,
Petrozavodsk, Russian Federation*

ABSTRACT. Relatively recently introduced into zooculture, arctic foxes retained the reproduction stereotype inherent to their wild ancestors, in particular, the time-compressed period of postnatal development. Unlike most productive animals belonging to the maturonal, from the point of view of development biology arctic foxes are of interest as immaturonate fur animals. The aim of this work is to study the distribution of lactate dehydrogenase isoenzymes in internal organs (heart, kidney, spleen, lungs, skeletal muscle, liver) in puppies of farmed blue arctic foxes *Alopex lagopus L.* at the age from 15 to 210 days after birth. Separation of isoenzymes was carried out by horizontal enzyme electrophoresis on agar gel plates. It is shown that in the arctic fox pup's heart after 15 days after the birth of, a high level of aerobic LDH isoenzymes with a total content of about 80% was observed. Statistically significant changes in the isoenzyme spectrum of LDH of kidneys were detected in 25 day's puppies. At the same time, the LDH₅/LDH₁ ratio decreased by 2 times compared to the previous age, which may be due to the beginning of the use of definitive food and the restructuring of the urine organs. In the period after jiggling from mothers in two-month puppies in the isoenzyme spectrum of LDH of the spleen and lungs (in tissues with the predominance of a hybrid fraction, LDH-3), significant rearrangements were observed. In the liver and in the muscle *m. biceps femoris* (organs with predominantly anaerobic energy production system) in the isoenzyme LDH profile from the 15th day the anaerobic subunits of the enzyme predominated. It has been revealed that the tissue-specificity of the isoenzymatic spectrum of LDH is manifested during the first month of life, and its final formation takes place during 6 months of postnatal development.

Keywords: arctic fox, lactate dehydrogenase isozymes, postnatal ontogeny, tissue specificity

Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh – Problems of Productive Animal Biology, 2018, 4: 75-86

Поступило в редакцию: 6.09.2018

Получено после доработки: 25.09. 2018

Унжиков Алексей Рудольфович, с.н.с., к.б.н., 8(142)57-31-07,
al.unzhakov@yandex.ru; uar@bio.krc.karelia.ru